

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental sesungguhnya (*true experimental research*) dengan desain penelitian *the post test only control group design* yang dalam penelitian tersebut tidak dilakukan pengukuran awal, karena diasumsikan bahwa di dalam suatu populasi tertentu tiap unit populasi adalah homogen maka pengukuran variabel dilakukan setelah pemberian perlakuan.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukandi Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang yang beralamat di Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang dan proses ekstraksi dilakukan di Materja Medica yang beralamatdi J.l Lahor No. 8 kota Batu .

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2019 - Oktober 2019.

3.3 Populasi, Teknik Sampling dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah batang tumbuhan kenanga (*Cananga odorata*) yang diperoleh di jalan Tirto Utomo gang 3B no.67, Landungsari, Dau, Malang.

3.2.3. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah simple random sampling. Simple random sampling adalah teknik pengambilan sampel dari populasi yang dilakukan secara acak tanpa memperhatikan ciri/strata yang ada pada populasi itu. Cara demikian dilakukan bila anggota populasi dianggap homogen.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah 24 sediaan preparat batang kenanga (*Cananga odorata*). Besarnya sampel diperoleh berdasarkan perhitungan dengan sebagai berikut:

Sampel size :

$$\text{Rumus : } (t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan : t = banyaknya perlakuan (treatment)

r = jumlah pengulangan (replikasi)

15 = faktor derajat kebebasan umum

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(8-1) (r-1) \geq 15$$

$$7 (r-1) \geq 15$$

$$7r - 7 \geq 15$$

$$7r \geq 15 + 7$$

$$r \geq 22 \div 7$$

$$r \geq 3,1 \text{ (dibulatkan menjadi 3)}$$

$$n = t \times r$$

$$= 8 \times 3 = 24 \text{ sediaan preparat batang (Sediaan sampel yang digunakan)}$$

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Jenis Variabel

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak kulit buah naga yang digunakan adalah 0%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kualitas preparat meliputi kejelasan dan kekontrasan warna preparat.

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah DMSO, ekstrak kulit buah naga, dan batang kenanga.

3.4.2 Definisi Operasional

Setiap variabel perlu di definisikan untuk mengurangi kesalahan dalam memaknai suatu kalimat yang digunakan dalam penelitian berikut adalah definisi operasional variabel:

1. Ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut asam sitrat 14% dan aquades.
2. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%

3. Kekontrasan pada preparat ditunjukkan oleh proses penyerapan atau pengikatan warna dengan kuat pada suatu jaringan tertentu, sehingga dapat mewarnai jaringan tersebut.
4. Kejelasan preparat ditunjukkan apabila bagian atau kenampakan dari anatomi jaringan dapat terlihat dan dibedakan dengan sangat jelas.
5. Pelarut untuk pengenceran ekstrak ku lit buah naga menggunakan *dimethylsulfoxide* (DMSO).

3.5 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 kali pengulangan dimana kondisi lingkungan, alat, dan bahan yang homogen. Denah RAL menggunakan 7 kelompok perlakuan dan 1 kelompok control dengan pengulangan sebanyak 3 kali disajikan dalam Gambar 3.1.

P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇
P ₅	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₆	P ₇	P ₄
P ₆	P ₇	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₀	P ₆	P ₇	P ₁
P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₀

Gambar 3.1. Rancangan Percobaan

Keterangan :

P₀ : Perlakuan kontrol positif dengan safranin

P₁ : Perlakuan tanpa pewarnaan 0%

P₂ : Perlakuan eksperimen dengan perlakuan 50%

P₃ : Perlakuan eksperimen dengan perlakuan 60%

P₄ : Perlakuan eksperimen dengan perlakuan 70%

P₅ : Perlakuan eksperimen dengan perlakuan 80%

P₆ : Perlakuan eksperimen dengan perlakuan 90%

P₇ : Perlakuan eksperimen dengan perlakuan 100%

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan merupakan kegiatan dalam mempersiapkan alat, bahan, dan administrasi. Kegiatan persiapan bahan ditujukan untuk mencari bahan-bahan yang diperlukan dalam kegiatan penelitian. Kegiatan administrasi ditujukan untuk mempersiapkan proposal peminjaman laboratorium mikroteknik biologi Universitas Muhammadiyah Malang dan surat perijinan Materia Medica Batu .

3.6.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1 dan Tabel 3.2

Tabel 3.1 Alat penelitian

No.	Nama Alat	Jumlah	No.	Nama Alat	Jumlah
1.	Botol flakon	8	9.	Erlenmeyer	9
2.	Kaca benda	24	10.	Pipet tetes	9
3.	Kaca penutup	24	11.	Sput	9
4.	Gelas arloji	24	12.	Stopwatch	1
5.	Mikroskop	1	13.	Beaker glass	2
6.	Inkubator	1	14.	Kamera	1
7.	Cutter	2	15.	Hotplate	1
8.	Silet	4	16.	Cawan petri	3

Tabel 3.2 Bahan penelitian

No.	Nama Alat	Jumlah
1.	Kulit buah naga merah (<i>Hylocereus polyrhizys</i>)	210ml
2.	Batang tumbuhan Kenanga (<i>Cananga odorata</i>)	24
3.	Larutan FAA	50ml
4.	Alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 100%	1000ml
5.	Ekstrak kulit buah naga merah (<i>Hylocereus polyrhizys</i>) 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%.	61ml
6.	Safranin	15ml
7.	DMSO	35ml
8.	Xylol	1000ml
9.	Parafin	1kg
10.	Aquades	250ml
11.	Enthelen.	50ml

3.6.3 Tahap Pelaksanaan

3.6.3.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizys*)

Langkah-langkah dalam pembuatan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menimbang kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) 10kg
2. Mencuci kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*)
3. Mengeringkan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*)
4. Menghancurkan kulit kering buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) dengan cara ditumbuk atau diblender.
5. Mengayak kulit buah naga merah yang sudah ditumbuk/diblender agar terpisah antara yang kasar dan halus
6. Melakukan proses maserasi selama 24 jam yaitu merendam, mencampurkan dan melarutkan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) yang telah dihancurkan ke dalam pelarut asam sitrat 14% dan aquades.
7. Melakukan supernatan yaitu proses pengambilan pelarut bening setelah melakukan maserasi
8. Melakukan evaporasi yaitu pemisahan pelarut dan hasil ekstrak dengan menggunakan rotary vacuum evaporasi ini didapatkan pelarut dan ekstrak pekat
9. Memasukkan hasil evaporasi kedalam waterbath, langkah ini bertujuan untuk menguapkan atau menghilangkan sisa-sisa pelarut yang ada.
10. Melakukan pengenceran menggunakan larutan *dimethylsulfoxide* (DMSO) terhadap hasil ekstrak pekat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% dan 1 perlakuan tanpa pewarnaan.

3.6.3.2 Pembuatan Preparat Section Tanaman Kenanga (*Cananga odorata*)

Langkah-langkah dalam pembuatan preparat section tanaman kenanga (*Cananga odorata*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengambil tumbuhan kenanga (*Cananga odorata*) bagian batang yang masih muda
2. Memotong batang 2 cm dimasukkan pada botol flakon
3. Fiksasi dengan FAA selama 24 jam
4. Membuang FAA
5. Dehidrasi alkohol 50%, 70%, 80%, 100%, 100%
6. Tetesi alkohol : xylol, 3:1, 1:1, 1:3 masing-masing 30 menit
7. Tetesi xylol murni selama 1 jam
8. Tetesi xylol : Parafin 1:9 selama 24 jam (diletakkan didalam incubator dengan suhu 60°)
9. Kemudian diganti paraffin murni selama 1 jam dalam inkubator
10. Block dibiarkan sampai mengeras
11. Pengirisan dan perekatan
12. Ditetesi xylol murni selama 6 menit
13. Tetesi campuran alkohol : xylol 1:3, 1:1, 3:1 masing-masing 3 menit
14. Dehidrasi alkohol 100%, 100% 80%, 70%, 50%, 30% masing-masing selama 3 menit
15. Cuci dengan aquades
16. Memberikan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) yang sudah diencerkan menggunakan pelarut DMSO dengan berbagai konsentrasi

dan pewarna safranin pada masing-masing sediaan section tumbuhan kenanga (*Cananga odorata*) setelah menghasilkan irisan yang tipis.

17. Membiarkan selama 6 jam agar ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) dan pewarna safranin dapat diserap oleh batang tumbuhan kenanga (*Cananga odorata*) sehingga dapat menyerap warna dari ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) dan pewarna safranin. Penggunaan pewarna ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*) dengan beberapa konsentrasi, yaitu 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100.

18. Cuci dengan aquades

19. Dehidrasi alkohol : xylol : 1, 1:1, 1:3 masing-masing 3 menit

20. Tetesi xylol murni

21. Menaruh bahan atau preparat dikaca benda

22. Mengamati dibawah mikroskop

23. Memfoto hasil preparat

24. Memberikan enthelen pada preparat dan menutupnya dengan kaca benda.

25. Labelling

3.6.4 Tahap Pengamatan

3.6.4.1 Pewarnaan Preparat

Potongan-potongan tipis yang sudah dimasukkan kedalam botol flakon kemudian diberi pewarnaan yang sudah disiapkan dengan waktu pewarnaan sesuai perlakuan dan ulangan.

3.6.4.2 Pengamatan Preparat

Preparat yang sudah diiris tipis dan diwarnai kemudian diletakkan di atas kaca benda lalu ditutup menggunakan kaca penutup. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop mulai dari perbesaran kecil hingga perbesaran besar.

3.7 Metode Pengumpulan Data

4.7.1 Teknik Pengumpulan Data

Teknik yang digunakan untuk pengumpulan data dalam penelitian ini adalah observasi langsung, pengamatan langsung dilakukan di laboratorium terhadap objek preparat section tumbuhan menggunakan mikroskop cahaya dan hasil pengamatan difoto menggunakan kamera. Rancangan data kejelasan preparat dan kontras warna pada preparat section tumbuhan bagian batang tanaman Kenanga (*Cananga odorata*) dengan pewarna alami ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizys*). Hasil foto kemudian dicetak untuk divalidasi melalui angket oleh validator yang dipilih berdasarkan keahlian dalam bidang mikroteknik sesuai pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Tim Validator Preparat Section Tumbuhan

No	Nama	Bidang Keahlian
1.	Endrik Nurrohman, S.Pd. M.Pd	Mikroteknik
2.	Rifqi Yassirul Haqqi, S.Pd	Mikroteknik
3.	Fitroh Nila P.H, S.Pd	Mikroteknik
4.	Dian Rizkiaditama, S.Pd	Mikroteknik
5.	Lala Julian Permana, S/Pd	Mikroteknik

Tim validator dilakukan oleh 5 instruktur mikroteknik laboratorium biologi Universitas Muhammadiyah Malang dimana kelima instruktur tersebut sudah berkompetensi dalam bidangnya, dan berpengalaman dalam proses pembuatan preparat mikroteknik atau histologi pada saat kegiatan preparasi dengan dosen maupun mendampingi para praktikan selama proses praktikum. Tim validator

harus memiliki kemampuan khusus agar dapat menilai secara subjektif terhadap mutu objek yang dinilai berdasarkan indra penglihatan yang normal.

4.7.2 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini ada dua aspek yaitu penilaian dalam segi kejelasan preparat, dankekontrasan warna preparat. Instrumen telah disajikan dalam Tabel 3.4 dan 3.5 serta indikator disajikan dalam Tabel 3.6 dan 3.7.

Tabel 3.4 Angket Kejelasan san kekontrasan warna pada preparat section tumbuhan pada bagian batang kenanga (*Cananga odorata*) dengan pewarnaan Ekstrak kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizys*)

No	Konsentrasi (%)	Preparat Ke	Kejelasan Preparat*			Kekontrasan Warna*		
			1	2	3	1	2	3
1	0	1						
		2						
		3						
2	50	1						
		2						
		3						
3	60	1						
		2						
		3						
4	70	1						
		2						
		3						
5	80	1						
		2						
		3						
6	90	1						
		2						
		3						
7	100	1						
		2						
		3						
Total Jumlah Preparat								
Persentase Jumlah Preparat								

Tabel 3.5 Angket Kejelasan dan Kekontrasan Warna Pada Preparat Section Tumbuhan Pada Bagian Batang Kenanga (*Cananga odorata*) dengan Pewarnaan Safranin

No	Safranin	Preparat	Kejelasan Preparat*			Kekontrasan Warna*		
			1	2	3	1	2	3
1	Safranin	1						
		2						
		3						
Total Jumlah Preparat								
Persentase Jumlah Preparat								

Tabel 3.4 Indikator kejelasan preparat yang diamati

Skor	Indikator	Keterangan
1	Tidak Jelas	Apabila bagian-bagian jaringan epidermis, korteks, xylem, floem, dan empulur pada batang kenanga (<i>Cananga odorata</i>) tidak dapat dibedakan dengan jelas.
2	Jelas	Apabila bagian-bagian jaringan epidermis, korteks, xylem, floem, dan empulur pada batang kenanga (<i>Cananga odorata</i>) dapat dibedakan dengan jelas.
3	Sangat Jelas	Apabila bagian-bagian jaringan epidermis, korteks, xylem, floem, dan empulur pada batang kenanga (<i>Cananga odorata</i>) dapat dibedakan dengan sangat jelas.

(Dewi, Ayu.R. 2016)

Tabel 3.5 Indikator kekontrasan preparat yang diamati

Skor	Indikator	Keterangan
1	Tidak kontras	Apabila pewarna tidak terikat kuat pada jaringan.
2	Kontras	Apabila pewarna hanya terikat pada jaringan.
3	Sangat Kontras	Apabila pewarna terikat sangat kuat pada jaringan.

(Dewi, Ayu.R. 2016)

3.8 Teknik Analisa Data

Proses analisis data disajikan dengan cara deskriptif kuantitatif dan analisis persentase. Data berupa persentase tingkat kejelasan preparat dan tingkat kekontrasan warna yang diperoleh dari angket yang diisi oleh panelis. Skor penilaian berupa skala terkecil satu dan skala terbesar tiga. Hasil penskoran setiap aspek yang dinilai validator kemudian dibagi dengan seratus sebagai konstanta untuk mendapatkan persentase penilaian menggunakan rumus:

$$P = \frac{x}{xi} \times 100$$

Keterangan :

P : Persentase

x : skor dalam satu butir pertanyaan

x_i : skor maksimal dalam satu butir pertanyaan

100 : konstanta

Data kuantitatif menggunakan SPSS dengan teknik uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji MannWhitney.

1. Uji kruskall Wallis

Uji ini dilakukan karena data yang diperoleh itu bersifat ordinal,yaitu berupa skor atau tingkatan kriteria terhadap kualitas preparat yang diberikanperlakuan 1 faktor berupa variasi kosentrasi pewarna 0%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan100% (Harinaldi, 2005).

Analisis hipotesa uji Kruskal Wallis didasarkan atas:

H_0 : populasi identik (tidak berbeda secara signifikan)

H_1 : populasi tidak identik (data berberbeda secara signifikan)

Kriteria pengambilan keputusan uji Kruskal Wallis didasarkan atas :

➤ Nilai F_{hit} dan F_{tabel}

a. Jika $F_{hit} < F_{tabel}$, Maka H_0 diterima

b. Jika $F_{hit} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak

➤ Nilai probabilitas (Sig.) :

a. Jika nilai probabilitas (Sig.) > 0.05 , maka H_0 diterima

b. Jika nilai probabilitas (Sig.) < 0.05 , maka H_0 ditolak

2. Uji Mann-Whitney (Uji lanjut)

Uji lanjut dilakukan untuk menguji rata-rata dari dua sampel yang berukuran tidak sama, sehingga dapat mengetahui pengaruh yang terbaik dari berbagai perlakuan (Saleh, 1986).

➤ Hipotesis uji Mann-Whitney (Uji lanjut) yaitu;

- a. H_0 : populasi identik (tidak berbeda secara signifikan)
- b. H_1 : populasi tidak identik (data berbedanya secara signifikan)

Hasil keputusan uji Mann-Whitney (uji lanjut) didasarkan atas nilai probabilitas Asymp Sig. (2-tailed), yaitu;

- a. Jika nilai probabilitas Asymp Sig. (2-tailed) > 0.05 , maka H_0 diterima
- b. Jika nilai probabilitas Asymp Sig. (2-tailed) < 0.05 , maka H_0 ditolak

